

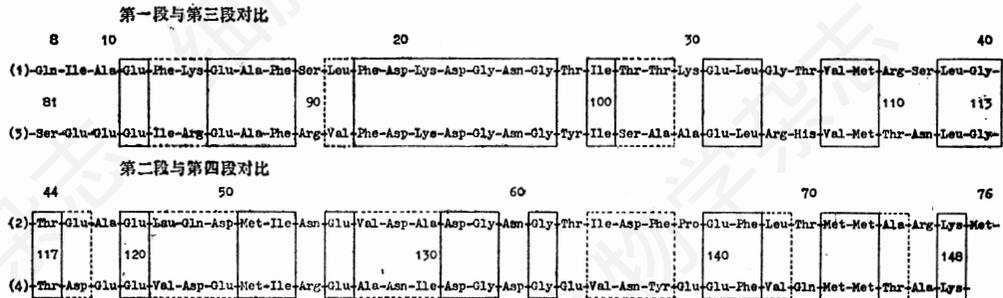
一、钙调蛋白的生物化学性质

钙调蛋白已相继从大鼠、牛与腔肠动物提取成功，牛脑的钙调蛋白的氨基酸排列顺序已经确定^[3]。

该蛋白的单体是由 148 个氨基酸组成，分子量为 16680，对热稳定，等电点为 4.3。分子中酸性氨基酸约占 30%，酸性与硷性基团之

比为 2.7，过量羧基有助于和 Ca^{2+} 可逆性结合。钙调蛋白有四个 Ca^{2+} 结合部位，相当于图 1(8—40、44—75、81—113、117—148)，如按其中第 1 与第 3 段，第 2 与第 4 段排列，次序相同的氨基酸达 31 对(以实线表示)，结构近似在功能上保持有置换关系的氨基酸有 18 对(以虚线表示)。

有趣的是这 4 个与 Ca^{2+} 结合的部位作用



不尽一致，PDE 仅与一个 Ca^{2+} 结合部位作用即能产生最大的激活，而微管解聚，则需四个部位全部结合^[4]。这有助于理解钙调蛋白的多种生化效应。由于钙调蛋白分子中没有半胱氨酸和羟脯氨酸等使肽链定型的成分，故当钙调蛋白与 Ca^{2+} 结合时，分子甚易弯曲变构，形成螺旋状三维结构，用所谓 EF 手指状结构来解释钙调蛋白对 Ca^{2+} 的结合，并认为这是所有能与 Ca^{2+} 相结合的蛋白的共同基本结构^[1,2,5]。正是氨基酸的螺旋状排列，由 6—8 个羧基上氧原子形成带阴电荷的腔，对结晶半径为 0.099nm 的 Ca^{2+} 有亲和力，呈现可逆的选择性结合作用^[2]。钙调蛋白与横纹肌中能与 Ca^{2+} 结合的原宁蛋白 C(Troponin C) 约有 75% 的氨基酸次序相仿^[1]，表明这些钙调蛋白在进化上有同源性。在钙调蛋白分子中 115 位有一个三甲基赖氨酸，带正电荷，如酵母细胞色素 C，藉此增强与其他酶的相互作用，钙调蛋白含有的这个氨基酸与其多重调节功能有关。

二、钙调蛋白的分布及其与钙的关系

Dedman 等用间接免疫荧光法观察钙调蛋

白在各种非肌细胞内的分布，发现细胞分裂的不同时期其分布是有变化的。在间期钙调蛋白分布在除细胞核以外的整个胞浆，与肌动蛋白细丝的分布相一致，提示钙调蛋白和肌动球蛋白 ATP 酶活性的调节有关。细胞进入分裂时，在前期钙调蛋白沿着浓缩密集的染色体随机分布，中期分布在纺锤丝，中后期局限于染色体和纺锤丝着丝点之间，后期则位于中间带区域，但迅速集中到两端小范围内，分布到二个细胞，终期又恢复到间期时与肌动蛋白分布相仿的状况。此种动态分布表明钙调蛋白和细胞有丝分裂时染色体的运动有关，并与微管的聚合和解聚亦有联系。荧光免疫的电镜观察，可见到钙调蛋白还分布在与微管相平行的滑面内质网、囊泡膜和线粒体膜，据此 Means 提出钙调蛋白在细胞分裂过程中至少有三种可能的作用^[4]：① 在分裂中期，染色体位于赤道区时，直接调节微管聚合和解聚，参与染色体的运动。② 调节肌动球蛋白的 ATP 酶活性。③ 调节膜的钙泵，以控制细胞内的钙浓度。

Ca^{2+} 与体内其他金属离子不同，Rasmussen 综合了 Ca^{2+} 广泛参与细胞活动的大量资

料, 提出 Ca^{2+} 和环-磷酸腺苷(cAMP)一样亦是第二信使^[5]。按照钙调蛋白的分布特点以及 Ca^{2+} 是以钙调蛋白— Ca^{2+} 复合物方式启动靶酶引起生理效应的事实^[1,2,4,5], 普遍认为钙调蛋白是细胞内的钙受体^[2,4]。从种系发生来看, 无论是动物还是植物, 钙调蛋白的结构和功能是一致的; 采用特异性的钙调蛋白抗原—抗体反应: 在牛脑和棉籽之间以及鼠蹩和腔肠动物之间, 均存在有免疫交叉反应, 说明这个调节蛋白是没有种属特异性的^[2,4]。在结构上保存了种系发生的特点, 从进化观点来看, 钙调蛋白是真核细胞活动过程的稳定调节剂。钙调蛋白除了与 Ca^{2+} 结合发挥其调控作用外, 未发现有其他功能。非肌细胞钙调蛋白对 Ca^{2+} 所能结合的容量, 与细胞内游离 Ca^{2+} 的量近乎相等。此外在形成钙调蛋白— Ca^{2+} 复合物过程中, 对第二信使 Ca^{2+} 的信息具有放大作用。这些事实均支持钙调蛋白是钙受体的观点。

三、钙调蛋白与细胞功能

钙调蛋白对细胞功能具有广泛调控作用。随着生理状态的不同, 哺乳类细胞内 Ca^{2+} 浓度变化范围大致是 $10^{-8} - 10^{-4}M$ ^[2,5]。当细胞受到刺激, 引起 Ca^{2+} 升高, 钙调蛋白与 Ca^{2+} 结合形成新的构型, 以钙调蛋白— Ca^{2+} 的方式, 激活各有关靶酶, 触发一系列生化反应, 最终导致生理效应。

1. 钙调蛋白对环核苷酸的调节 Ca^{2+} 与环核苷酸之间的密切关系已经充分肯定^[5], 因而钙调蛋白必然会影响到细胞内环核苷酸水平。实验表明, 哺乳动物的脑内有需钙调蛋白的腺苷环化酶(AC)存在^[6], 钙调蛋白与 Ca^{2+} 结合以需钙调节蛋白方式激活 AC。通过调控 Ca^{2+} 浓度变化, 对 AC 呈双向作用, 低浓度时激活, 高浓度时抑制同时激活 PDE, Ca^{2+} 使 AC 和 PDE 活性呈反向性变化^[7]。当 PDE 受激活时, 水解 cAMP 同时还水解环-磷酸鸟苷(cGMP), 且对后者水解率更高^[1,5]。钙调蛋白通过与 Ca^{2+} 结合而调控 cAMP 和

cGMP 的浓度, 可见钙调蛋白影响范围之广。Cheung 提出: 神经系统活动与 Ca^{2+} 密切相关, 内分泌系统则通过环核苷酸(主要对 cAMP 了解较多) 而显示作用, 钙调蛋白以钙结合蛋白形式影响 AC 和 PDE 活性, 既涉及 Ca^{2+} 又调节 cAMP, 使神经与内分泌两大调节系统在同一分子水平上得到统一。

2. 钙调蛋白与甲基化和磷酸化调节作用的关系 当前在研究细胞信息传递和行为调控的机理中, 一般认为可逆性共价键的结合对大分子物质性质的改变具有重要作用, 其中蛋白磷酸化和甲基化作用是最为突出的例子^[8]。

首先就钙调蛋白与甲基化的关系进行讨论, 甲基化可分为蛋白甲基化与细胞膜磷脂甲基化两方面。Adler 等认为蛋白羧基的甲基化作用是细胞行为调控的基本机制^[8]。有证据表明, 蛋白羧基甲基化酶在哺乳类组织器官中广泛存在, 在神经组织与内分泌器官如脑与垂体含量尤为丰富。从个体发生来看, 追溯到精子趋化性和受精作用均与蛋白甲基化有关。Adler 等从原核细胞到真核细胞趋化性受体和趋化性运动过程, 对蛋白甲基化所起的作用进行了论证^[8]。单细胞的趋化性运动显然需要运动器官的参与, 不久前在原虫纤毛中已分离出钙调蛋白, 提示趋化性反应显然有钙调蛋白参加。大量资料表明, 凡涉及运动功能的行为过程必然与钙调蛋白— Ca^{2+} 相关联^[1,2,4,5]。至于蛋白甲基化和钙调蛋白之间的确切关系, 这是细胞生物学中一个值得探索的问题。Axelrod 等提出细胞膜的磷脂甲基化与生物信息的传递有关, 并证明磷脂甲基化与 β 受体的 AC 及 Ca^{2+} 内流相偶联^[9], 涉及 cAMP 升高、组织胺释放、磷脂酶 A_2 的激活(与前列腺素合成有关)、细胞分裂及趋化性增强等作用。作者指出, 虽然不是所有受体参与的变化均与磷脂甲基化有关, 但上述这些实验证明的效应, 首先是由于磷脂甲基化而引起膜流动性增加, Ca^{2+} 通道相继开放, Ca^{2+} 内流增加, 进而导致这些相应的变化^[9]。原先 Axelrod 在许多

表1 钙调蛋白对酶和细胞过程的调节^[2,4]

影响过程	调节的酶
环核苷酸代谢	腺苷环化酶、磷酸二酯酶
蛋白磷酸化作用	需钙蛋白激酶
对肌动、球蛋白作用	肌球蛋白轻链激酶
细胞分裂过程	微管的聚合与解聚
糖代谢	磷酸化酶激酶
钙泵	Ca ²⁺ -Mg ²⁺ -ATP酶
递质释放	需钙蛋白激酶
前列腺素	磷脂酶 A ₂
卵受精	NAD激酶

种不耐热、分子量为8万、能与钙调蛋白相结合的蛋白质，称为钙调蛋白结合蛋白(CaM-BP₈₀)，分布以脑内浓度为高，在新纹状体(Neostriatum)尤为显著。在基底核用标记抗体观察到CaM-BP₈₀主要密集在突触后和树突的微管部位，与钙调蛋白分布相平行。对需钙调蛋白的PDE、AC、Ca²⁺-ATP酶均呈抑制作用^[19]。无独有偶，Klee等提取了一种不耐热的蛋白，用放射免疫分析法测定这种蛋白仅存在于神经系统，故命名为神经贮钙蛋白(Calcineurin)，其作用亦是阻止钙调蛋白对需酶的激活。每个神经贮钙蛋白分子亦能与四个Ca²⁺结合，是作为钙调蛋白的缓冲剂而发挥作用的^[20]。这些物质的存在，可能和生物性调节常呈拮抗支配有关，其确切生理意义有待探索。

综上所述，钙调蛋白为148肽构成的蛋白单体，普遍存在于真核细胞，以细胞内钙受体方式形成钙调蛋白—Ca²⁺复合物，参与细胞一系列基本活动的调节，引起人们广泛的兴趣和重视。目前有关钙调蛋白的研究虽已涌现出大量资料，但大多属于现象的范畴，对于同一分子如何通过不同酶系实现其普遍性调节的原理远未阐明；有关钙调蛋白合成、降解及自身浓度的调控也有待研究；它与各种激素与递质间的确切关系亦未澄清。可以预期，随着钙调蛋

白研究的进展，将有助于揭示细胞生物学的基本调控原理，对各有关分支学科的发展将会产生深远的影响。

参 考 文 献

- [1] Marx, J. L., 1980. *Science* 208 (4441): 274.
- [2] Cheung, W. Y. 1980. *Science* 207 (4426): 19.
- [3] Watterson D. M. et al. 1980. *J. Biol. Chem.* 255 (3): 962.
- [4] Means A. R. et al. 1980. *Nature* 285 (5760): 73.
- [5] Rasmussen H. et al. 1977. *Physiol. Rev.* 57(3): 421.
- [6] Westcott K. R. et al. 1979. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76(1): 204.
- [7] Piascik M. T. et al. 1980. *J. Biol. Chem.* 255 (9): 4176.
- [8] Springer M. S. et al. 1979. *Nature* 280 (5720): 297.
- [9] Hirata F. et al. 1980. *Science* 209 (4461): 1082.
- [10] Greengard P. 1978. *Science* 199 (4325): 146.
- [11] Schulman H. et al. 1978. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75 (11): 5432.
- [12] Nathansen J. A. 1977. *Physiol. Rev.* 57 (2): 157.
- [13] Hathaway D. R. et al. 1979. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76(4): 1653.
- [14] Scholey J. M. et al. 1980. *Nature* 287 (5779): 233.
- [15] Frederiksen D. M. 1980. *Nature* 287 (5779): 191.
- [16] Sheterline P. 1980. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 93(1): 194.
- [17] Lunch T. J. et al. 1979. *Arch. Biochem. Biophys.* 194 (1): 165.
- [18] Pershadsingh H. A. et al. 1980. *J. Biol. Chem.* 255 (19): 8983.
- [19] Wallace R. W. et al. 1980. *Biochemistry* 19(9): 1831.
- [20] Klee C. B. et al. 1979. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76(12): 6270.